 doi 10.3969/j.issn.1673-4254.2015.09.31 J South Med Univ, 2015, 35(9): 1366-1368

基础研究

海南汉族人群创伤后应激障碍患者与5-HTTLPR基因多态性的相关性

陈大球[1],高允锁[2],郭 敏[2],林 展[1],周家彬[1],范春玲[1],郭骏成[2]
[1]海南省平山医院,海南 五指山 572299;[2]海南省人民医院,海南 海口 570311

摘要:目的 探讨海南地区汉族人群创伤后应激障碍与5-羟色胺转运体启动子(5-HTTLPR)基因多态性之间的相关性。**方法** 选择海南地区汉族人群创伤后应激障碍患者和健康对照者各57例,应用聚合酶链式反应(PCR)及扩增片断长度多态技术检测5-HTTLPR基因多态性,采用病例对照的关联分析方法对基因型和等位基因频率进行分析。**结果** 海南汉族人群创伤后应激障碍组出现LL、SL、SS分别为5、16、36例,对照组中分别出现16、22、19例。从基因频率上看,创伤后应激障碍组L出现22.8%,S出现77.2%,而对照组中,L出现47.4%,S出现52.6%,两组间,在基因型及基因频率上存在显著差异(P<0.01)。**结论** 海南汉族人群5-HTTLPR基因多态性可能与创伤后应激障碍有关。

关键词:创伤后应激障碍;基因多态性;5-羟色胺转运体启动子;遗传学

近年来,自然灾害、人为灾害频繁发生,创伤后应激障碍(PTSD)的发生率明显增高,PTSD是对创伤等严重应激因素的一种异常精神反应,PTSD症状主要表现为对创伤事件的病理性重现、对创伤相关线索的回避、持续性的高唤醒,以及对创伤经历的选择性遗忘和情感麻木。创伤后PTSD有着较高的发生率[1],并可能伴有严重的社会和家庭危害性,故近年来已成为精神科、心理学研究的新热点。近年来,我国突发性灾害的增多,PTSD发生率也逐年增加。因此,探究PTSD的发生机制,对于其防治非常必要。目前PTSD机制的大多数研究关注灰质核团、大脑皮质的改变,而缺乏对遗传学和免疫学变化的研究。本研究同时通过比较海南地区汉族人群PTSD组与对照组5-HTTLPR的基因型、等位基因频率的差别,进一步探讨两者的相关性,为PTSD患者的临床诊断提供科学依据,为PTSD发病的基因遗传学提供科学依据。

1 对象和方法

1.1 对象

所有病例来自2013年12月~2014年12月期间在海南省平山医院及海南省人民医院心理门诊求助的调查确诊PTSD汉族患者。纳入标准:①年龄为35~55岁;②右利手;③符合美国《精神疾病诊断与统计手册》(DSM-Ⅳ)中关于PTSD的诊断标准。排除标准;伴发精神发育迟滞、人格障碍、物质依赖或酒依赖。自愿参加研究并知情同意。研究组男28名,女29名,平均年龄46.26±6.40岁,平均受教育年限10.59±3.20年。对照组男30名,女27名,平均年龄42.92±5.98岁,平均受教育年限10.96±3.08年。两组性别、年龄及受教育程度差异无显著性(P>0.05)。

1.2 方法

常规酚氯法提取基因组DNA。PCR引物如下:正向5'-GGCGTTGCCGCTCTGAATGC-3,反向5'-GAGGGACTGAGCTGGACAACCAC-3,采用宝生物工程(大连)有限公司的TaKaRaEx。将PCR产物于6%非变性聚丙烯酰胺凝胶进行垂直电泳。溴化乙啶(EB)染色后采用紫外凝胶分析检测仪检测各样本的电泳图像,并判断基因型。

1.3 统计分析

使用SPSS13.0统计软件包进行数据分析。方法包括:Hardy-Weinberg(H-W)吻合度测验、频数分析、方差分析、t检验、χ^2检验。

2 结果

2.1 研究组和对照组基本情况比较

研究组(PTSD)与对照组间性别比例、年龄、教育程度比较均无显著性差异(P>0.05,表1)。

2.2 Hardy-Weinberg遗传平衡定律检验

经Hardy-Weinberg遗传平衡定律检验,5-HTTLPR的基因分布符合遗传平衡定律,具有群体代表性(表2)。

2.3 PTSD组和对照组基因型及等位基因比较

5-HTTLPR基因在创伤后应激障碍组出现LL、SL、SS型分别为5、16、36例,对照组中分别出现16、22、19例。从基因频率上看,创伤后应激障碍L基因出现

收稿日期:2015-05-21
基金项目:国家自然科学基金(81260209);海南省重点科技项目(Zdxm20130073);海南省国际科技合作专项(kjhz2014-09)
Supported by National Natural Science Foundation of China (81260209).
作者简介:陈大球,E-mail: daqiu09@126.com
通信作者:高允锁,研究员,E-mail: yunsuogao@126.com

表1 PTSD组与对照组基本情况比较

组别	*n*		年龄(岁)	教育年限(年)
	男	女		
PTSD组	28	29	46.26±6.40	10.59±3.20
对照组	30	27	42.92±5.98	10.96±3.08
P	>0.05■		>0.05▲	

■经χ^2检验; ▲经t检验.

表2 5-HTTLPR的基因分布Hardy-Weinberg遗传平衡定律检验

组别	基因型			χ^2	*P*
	LL	SL	SS		
PTSD组	5	16	36	2.34	>0.05
对照组	16	22	19		

22.8%，S出现77.2%，而对照组中，L出现47.4%，S出现52.6%，两组间，在基因型及基因频率上存在显著差异(*P*<0.01，表3)。

2.4 应激得分的相关性分析及男、女性之间的差异

初测及6次跟踪测量中，3种基因型之间在生活事件上应激得分总体上呈下降趋势(表4)。其中第1次和第2次跟踪测量中应激得分有显著先差异(*P*<0.05)，时候检验显示KK型的应激得分显著低于SL和SS型，而在其它跟踪测量中，3种基因型之间在生活事件应激得分无显著性差异(*P*>0.05)。

3 讨论

创伤后应激障碍是灾害后精神及行为障碍的一种重要表现形式，具有发病率及患病率高、病程长、疗效差

表3 PTSD组与对照组基因型及等位基因比较(*n*=57, %)

组别	基因型频率(%)			等位基因频率(%)	
	LL	SL	SS	L	S
PTSD组	5(8.8)	16(28.1)	36(63.1)	26(22.8)	88(77.2)
对照组	16(28.1)	22(38.6)	19(33.3)	54(47.4)	60(52.6)
χ^2		11.96		15.10	
P		0.003		0.001	

表4 三种基因型之间在应激得分上的差异

应激得分	SS(M±SD) (*n*=36)	SL(M±SD) (*n*=16)	LL(M±SD) (*n*=5)	F
初测	118.6±29.63	115.65±27.44	117.13±28.54	0.256
跟踪1	97.55±29.65a	93.59±24.6b	85.57±27.13	4.669*
跟踪2	95.78±30.14a	87.35±29.78b	81.57±29.96	4.964*
跟踪3	87.45±28.39	86.15±24.32	86.8±26.35	0.651
跟踪4	81.65±27.11	81.96±25.77	81.81±26.44	0.498
跟踪5	79.61±23.88	80.11±26.41	79.86±25.14	1.123
跟踪6	78.5±25.39	79.94±22.37	79.22±23.88	0.461

*P<0.05.

等特点，严重影响了临床救治[2]。对于创伤后应激障碍发病机制及其防治的研究日益受到关注。近年来，随着自然灾难、战争、恐怖事件等的增多，有关PTSD的研究越来越多。2008年5月12日，我国四川省汶川发生里氏8.0级地震，更加推动了对PTSD的关注和研究[3-4]。创伤后应激障碍是由异乎寻常的、威胁性或灾难性心理创伤导致的延迟出现和长期持续的精神障碍。PTSD的特异性症状包括在遭遇创伤性事件后出现的再体验、回避和警觉性增高。其诊断标准必须包括再体验、回避和警惕性增高三类症状中每一种的特定个数。目前有关PTSD及其发病机制的研究很多，但遗传因素对其影响尚不清楚。PTSD的遗传学研究尚处于起步阶段，研究的数量较少，且多停留在单个基因、单个位点的多态分析。由于PTSD本身在临床上具有高度异质性，应结合表观遗传学与传统遗传学两种研究方法，从PTSD的遗传易感性与环境的相互作用方面探讨其发病机制。

5-HT系统在PTSD病理中的作用机制尚不清楚，但5-HT被认为与PTSD的情绪不稳、易激惹及睡眠异常等症状有关[5-6]。5-HT转运体基因(5-HTT基因)是研究最广泛的基因之一，该基因与应激性事件后的5-HT能活性增强有关，

5-HT能活性异常增强可能介导情感异常与PTSD的易感性[7]。因此，调控5-HT系统基因可能会在PTSD的易感性或生命过程中对各种应激物的抑郁反应发挥一定

的作用。人类5-HTT表达过程中的等位基因变异是由于含2个主要等位基因的启动子区(5-HTTLPR)多态性引起,该等位基因为长等位基因(L)和短等位基因(S)。体外实验表明长片段L比短片段S有较高的转录活性,具有LL基因型的脑组织及培养细胞产生5-HTT mRNA及蛋白表达量均比SS基因型高,因此,5-HTTLPR可能通过影响基因的转录活性和5-HTT蛋白的功能影响5羟色胺系统功能,从而影响个体的情感、精神、人格障碍等[8-9]。Boals等[10]通过PTSD患者和健康组的5-HTTLPR基因进行分析,发现PTSD患者的SS基因型显著高于健康对照。Bailey等[11]在飓风受灾人群中发现5-HTTLPR基因多态中的S等位基因能显著增加PTSD的发生风险,最高发生风险是同时具有SS基因型、低社会支持及强飓风创伤暴露者。既往大量的研究已表明,5-HTTLPR与许多精神疾病相关,如SS基因型多出现在严重的抑郁及焦虑症患者中[12-13]。一项大样本的双生子研究显示5-HTTLPR含有SS或SL的个体,在应激性事件后易产生PTSD的抑郁性反应,进一步分析结果显示5-HTT基因多态与应激后情感障碍的发生有关[14]。另有研究表明SS或SL等位基因携带者遇到恐惧刺激时杏仁核活性比LL等位基因高,而SL携带者焦虑程度比LL低,提示恐惧和焦虑可能均与5-HTT基因突变有关[15]。一些研究表明,拥有2个短等位基因(SS或SL)的5-HTT多态性的个体比只有1个或2个长等位基因(LL)的个体对应激更为敏感[16]。总之,5-HTT可能对应激反应程度发挥一定的作用,其基因突变可调节个体对应激产生的抑郁敏感度。尽管5-HTT和PTSD易感性的研究较少,但对恐惧刺激引起杏仁核活性的提高,与纯合LL基因相比更可能发生在携带有纯合SS基因或杂合SL基因的个体上。

我们通过对海南地区57例PTSD汉族患者与57例健康者的5-HTTLPR基因多态性分析,发现无论是基因型还是基因频率都存在显著差异。说明5-HTTLPR基因多态性与应激状态下的病理及行为学方面的改变有关。故可表明5-HTTLPR基因多态性与PTSD相关。本研究测序结果表明,S等位基因比例明显多于L等位基因(S=88.0%;L=26.0%),基因型SS和LS等位基因明显占优势,这与之前报道的中国(S=77.0%;L=23.0%)、日本(S=82.3%;L=17.7%)等亚洲人群结果基本相符,但与欧洲及北美人群存在差异,在这些人群中,等位基因L(S=45.3%;L=54.7%)及基因型LL占有较高的比例。这一系列差异考虑种族异质性,所以在对5HTTLPR多态性研究过程中需考虑种族背景影响。对于PTSD与5-HTTLPR多态性的关系,国外有相关的研究,而对于中国人群尚无明确报道。本研究可以明确在海南省汉族人群中,PSTD与5-HTTLPR也是存在相关的。

参考文献:

[1] Robinson BL, Shergill SS. Imaging in posttraumatic stress disorder [J]. Curt Opin Psychiatry, 201l, 24(1): 29-33.
[2] Roth TL, Zoladz PR, Sweatt JD, et al. Epigenetic modification of hippocampal Bdnf DNA in adult rats in an animal model of post-traumatic stress disorder[J]. J Psychiatr Res, 2011, 45(7): 919-26.
[3] 魏品康, 孙大志, 庞 斌, 等. 震后13893例救援军人及灾民应激障碍调查[J]. 现代预防医学, 2010, 37(17): 3286-7.
[4] 刘书莲, 程晓丽, 温雯静. 多巴胺D2, D3受体基因多态性与汉族人精神分裂症相关研究[J]. 中国神经精神疾病杂, 2012, 第3(38): p155-9.
[5] 何晓莉, 张先庚, 彭德忠, 等. 创伤后压力心理障碍症孕妇的行为表观遗传研究分析[J]. 护理研究, 2013, 27(10): 952-4.
[6] Chapman C, Mills K, Slade T, et al. Remission from post-traumatic stress disorder in the general population[J]. Psychol Med, 2012, 42 (8): 1695-703.
[7] Andero R, Brothers SP, Jovanovic T, et al. Amygdala-dependent fear is regulated by Oprl1 in mice and humans with PTSD[J]. Sci Transl Med, 2013, 5(188): 188ra73.
[8] Frielingsdorf H, Bath KG, Soliman F, et al. Variant brain-derived neurotrophic factor Val66Met endophenotypes: implications for posttraumatic stress disorder[J]. Ann N Y Acad Sci, 2010, 1208(8): 150-7.
[9] Ferraro L, Beggiato S, Marcellino D, et al. Nanomolar concentrations of cocaine enhance D2-like agonist-induced inhibition of the K^+-evoked [^{3}H]-dopamine efflux from rat striatal synaptosomes: a novel action of cocaine[J]. J Neural Transm, 2010, 117(5): 593-7.
[10] Boals A, Hathaway LM. The importance of the DSM-IV E and F criteria in self-report assessments of PTSD[J]. J Anxiety Disord, 2010, 24(1): 161-6.
[11] Bailey JN, Goenjian AK, Noble EP, et al. PTSD and dopaminergic genes, DRD2 and DAT, in multigenerational families exposed to the Spitak earthquake[J]. Psychiatry Res, 2010, 178(3): 507-10.
[12] Morey RA, Hariri AR, Gold AL, et al. Serotonin transporter gene polymorphisms and brain function during emotional distraction from cognitive processing in posttraumatic stress disorder[J], BMC Psychiatry, 2011, 5(11): 76.
[13] Domschke KC, molecular genetics of psychotic depression[J]. Schizophrenia bulletin, 2013, 39(4): 766-75.
[14] Abbo C, Kinyanda E, Kizza RB, et al. Prevalence, comorbidity and predictors of anxiety disorders in children and adolescents in rural north-eastern Uganda[J]. Child Adolesc Psychiatry Ment Health, 2013, 7(1): 21.
[15] Mccarron KK, Reinhard MJ, Bloeser KJ, et al. PTSD diagnoses among Iraq and Afghanistan veterans: comparison of administrative data to chart review[J]. J Trauma Stress, 2014, 27(5): 626-9.
[16] Braakman, MH. Validity of'post-traumatic stress disorder with secondary psychotic features[J]. Acta Psychiatrica Scandinavica, 2010, 2(14): p15-24.

(编辑:孙昌朋)